

Docteur A. RICHARD

DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ASSISTANT DE CONSULTATION

A L'HOPITAL DE L'INSTITUT PASTEUR



LES

SPIROCHÈTES DE LA BOUCHE



PARIS

JOUBE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, Rue Racine, 15

1921

A MON GRAND-PÈRE

A MA GRAND-MÈRE

A MON PÈRE

A MA MÈRE

*En faible témoignage de pro-
fonde gratitude.*

A MA FEMME

A MA SŒUR

A MES PARENTS

A MES AMIS

A LA MÉMOIRE DE MON COUSIN

FERNAND DESCHILDRE

Externe des Hôpitaux
Mort pour la France

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR F. BEZANÇON

Officier de la Légion d'Honneur
Professeur de Bactériologie à la Faculté de Médecine
Médecin de l'Hôpital Boucicaut
Membre de l'Académie de Médecine

Qui me fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

A MONSIEUR LE DOCTEUR L. MARTIN

Officier de la Légion d'Honneur
Sous-Directeur de l'Institut Pasteur
Médecin Directeur de l'Hôpital Pasteur
Membre de l'Académie de Médecine

En témoignage d'extrême reconnaissance pour la bienveillance avec laquelle il m'a constamment dirigé.

A MES MAITRES DANS LES HÔPITAUX DE PARIS

MM. les professeurs Couvelaire et Rénon, MM. les professeurs agrégés Mocquot, Mathieu, L. Solal, MM. les Docteurs Siredey, Variot, Caussade, médecins des hôpitaux, Robineau, Dujarrier, chirurgiens des hôpitaux, que je prie de vouloir bien agréer l'expression de mes sentiments de reconnaissance pour l'éducation clinique que je leur dois.

A MES MATRES DE L'HOPITAL PASTEUR
ET DANS LES LABORATOIRES

M. Les Docteurs L. Martin, Veillon, Darré, Loiseau, Salimbeni, Pettit, Dumas, Reilly, Dujarric de la Rivière.

A MES MAITRES DE L'ÉCOLE FRANÇAISE
DE STOMATOLOGIE

M. les Docteurs Béliard, Bello, Bozo, Chompret, Fargin-Fayolle, Gires, Guilly, Herpin, Izard, Kritchewsky, Nespoulous, Nogué, Ponroy, Réal, Robin, Rodier, Rousseau Decelle, Schaefer.

A MESSIEURS LES DOCTEURS Déléarde, L. Durand, Goffart, Lebret, Maumus, Mendel, Pironneau, Rousseau, Vanuxeem, Vignes.

A MES CAMARADES DE L'HÔPITAL PASTEUR,
Arsac, Compagnon, Laffaille.

Je tiens à remercier plus particulièrement le Docteur Dujarric de la Rivière qui a bien voulu me donner très aimablement de nombreux documents et d'utiles conseils pour la rédaction de ce travail.

LES SPIROCHÈTES DE LA BOUCHE

GÉNÉRALITÉS

L'étude des spirochétidés a pris, en médecine, durant ces dernières années, une importance de premier ordre que justifie l'intérêt scientifique et pratique de cette question. La clinique et le laboratoire s'accordent à établir le rôle pathogène de certains spirochétidés. Nul ne songe plus à contester la spécificité du Treponème de la syphilis ou du Spirochète de l'ictère infectieux, pour ne citer que ces deux exemples. Mais, à côté de ces faits bien établis, combien d'autres viennent se placer qui prêtent à discussion : ils sont d'autant plus intéressants. Certains Protozoaires dont la description pouvait passer pour une étude de science pure ont été trouvés par la suite à l'étiologie de maladies diverses chez l'homme ou chez les animaux ! Il est souvent difficile de préciser les limites du parasitisme ou les conditions qu'il nécessite. L'exemple que nous choisissons en témoigne : la présence de Spirochètes dans la bouche à l'état normal ou pathologique est un fait banal, connu depuis longtemps et facile à mettre en évidence ; mais ont-ils tous un rôle pathogène et dans quelles conditions ? Des faits contradictoires ont été avancés et bien des points resteraient à préciser. Mais l'étude des Spirochètes de la bouche présente

déjà un réel intérêt du fait que ces parasites constituent un matériel facile et que les progrès réalisés à leur occasion pourront avoir une portée générale.

Avant d'entreprendre l'étude des Spirochètes de la bouche il est nécessaire de donner quelques précisions sur la valeur des termes employés. La plupart des auteurs qui ont à parler de ces organismes emploient indifféremment les termes de Spirille, Spirochètes ou Tréponème. Dans un article de la *Semaine médicale* paru en 1906, le professeur R. Blanchard en a précisé la diagnose : « les termes de *Spirillum* et de *Spirochaeta*, dit-il, sont connus de quiconque est au courant de la microbiologie, mais quelle est leur signification précise ? s'appliquent-ils à des êtres réellement dissemblables... sont-ils au contraire synonymes ? Assurément cette dernière opinion est la plus répandue ; elle est pourtant de tous points inexacte. Bien que rapprochés par leur morphologie en ce sens que leur corps est contourné en spirale... les *spirillum* et les *Spirochaeta* diffèrent profondément par leur structure. »

Diagnose du genre *Spirillum* Ehrenberg, 1838. Corps spiralé à section cylindrique non effilé aux extrémités. Pas de membrane ondulante. Un ou plusieurs flagelles infléchis en courbe régulière, soit aux deux extrémités, soit seulement à l'une d'elles. Formation de spores endogènes constatée chez nombre d'espèces. Organismes de taille relativement considérable, se cultivant assez aisément sur divers milieux usités en Bactériologie.

Diagnose du genre *Spirochaeta* Ehrenberg, 1838. Corps excessivement grêle, spiralé, aplati, l'ectoplasme s'étalant en une étroite membrane ondulante qui entoure en spirale tout le corps. Pas de flagelles ; pas de spores endogènes. Un noyau très allongé, filiforme, occupant l'axe du corps, avec grains de chromatine distribués à sa surface. La multiplication se fait, selon toute apparence, par division longitudinale.

Diagnose du genre *Treponema* Schaudinn, 1905. Corps spiralé, non aplati, à section cylindrique, effilé aux extrémités. Un flagelle à chaque extrémité ; pas de membrane ondulante. Multiplication par division longitudinale.

La présence d'organismes spiralés dans la bouche a été signalée depuis longtemps et il est curieux de suivre par l'examen des travaux qui se sont succédés les progrès réalisés dans l'étude des spirochétidés.

Le premier, Leuwenhoeck, remarqua parmi les innombrables organismes de la bouche *semper magna cum admiratione dictæ illi materiæ* (tartre dentaire) *multa exigua admodum animalcula jacundissimo modo se moventia*. En 1847, Jicinus en fait une étude détaillée, les appelle *denticola* et les classe parmi les Infusoires. Leur nature véritable est vue pour la première fois par Pasteur ; il signale la présence de microorganismes spiralés dans la salive d'un enfant atteint de stomatite ulcéreuse que Bergeron lui avait envoyé. « Avec une obligeance parfaite, dit Bergeron, M. Pasteur a bien voulu examiner

le liquide sanieux pris sur un enfant atteint d'une stomatite ulcéreuse type et que j'avais conduit au laboratoire de l'Ecole normale. Frappé tout d'abord de la présence de spirilles assez nombreux au milieu de globules de pus et de spécimens variés de la flore buccale, M. Pasteur pensa que ce microbe devait être l'agent de reproduction de la maladie ; il le cultiva avec succès dans un liquide approprié et il l'inocula à des lapins ; mais ces inoculations restèrent sans résultat. » Faisant de nouvelles recherches avec M. Netter, qui était alors son interne, Bergeron trouve les Spirilles signalés par Pasteur, dans la sanie des ulcérations des stomatites. « Suivant nous, dit Bergeron, et je tiens de M. Pasteur lui-même que telle est aussi son opinion, de ce qu'on a trouvé des spirilles sur quelques sujets non atteints de stomatite ulcéreuse ou dont la bouche était parfaitement saine, il ne suit pas nécessairement que ce microbe ne puisse point dans certaines conditions de milieu ou de développement restées jusqu'ici insaisissables, jouer un rôle actif dans la pathogénie de la stomatite ulcéreuse. Ne trouve-t-on pas des bactéries et des vibrions sur des sujets qui ne sont atteints ni du charbon, ni de la septicémie ? » En 1892, Miller publie une étude d'ensemble sur les bactéries de la bouche. Il donne la description exacte d'un microorganisme à forme vibrionienne qu'il réussit à cultiver sur sérum coagulé et qui fut connu après lui sous le nom de *Spirillum spatum*, Miller. Il découvrit aussi *Spirillum dentium*, mais ne put le cultiver. En 1898,

Vincent donne la description de la symbiose fuso-spirillaire. Les travaux de ces auteurs sont confirmés par de nombreux chercheurs et en particulier par Bernheim et Abel. En 1900, paraît le travail de Lesueur qui paraît être le premier à signaler la présence de l'association fuso-spirillaire dans la stomatite mercurielle. Rona, dans son mémoire (1902) sur les différentes localisations du Bacille fusiforme a étudié plusieurs cas de stomatite mercurielle dans lesquelles ce parasite associé à des Spirochètes paraissait manifestement en cause. Rona combattait ainsi l'opinion de Loblowitz qui venait d'avancer des faits contraires.

Lorsqu'en 1905 Schaudinn et Hartmann découvrent le Tréponème de la syphilis, l'étude des microorganismes de la bouche prend un nouvel essor. C'est tout d'abord Schaudinn qui s'en occupe et étudie *Spirillum buccalis* et lui découvre une membrane ondulante. Ces recherches sont complétées par celles de Hoffmann et Prowazeck qui, l'année suivante, étudient ces microorganisme à l'état frais et sur des préparations colorées au Giemsa, après fixation par les vapeurs osmiques. Ils distinguent trois variétés : *Sp. dentium*, *Sp. buccalis* et une forme intermédiaire. Mühlens et Hartmann réussissent à cultiver un de ces Spirochètes *Sp. dentium* dont ils font une étude minutieuse.

Plus près de nous d'intéressantes recherches ont été publiées, particulièrement en France. En 1909 paraît la thèse de Lagarde sur « la stomatite mercu-

rielle, maladie fuso-spirillaire; ce titre est assez explicite et Lagarde considère la stomatite comme une « spirillose ». Cet auteur montre que l'on trouve toujours à la surface des ulcérations le Bacille fusiforme accompagné soit par un Spirochète du type de celui de l'angine de Vincent, soit par un fin Spirochète en « virgule », analogue à une espèce décrite par Miller. A la faveur de l'ultra-microscopie dont ils viennent de montrer l'importance Gastou (1908) et Commandon (1909), précisent un certain nombre de caractères de ces Spirochètes; Commandon en particulier, établit une division dans les formes intermédiaires décrites par Hartmann et Prowazek. Dans sa thèse de 1911, Le Blaye, reprend et confirme les travaux de Lagarde, par l'étude clinique, par l'étude anatomo-pathologique des lésions, par l'expérimentation sur le Chien en particulier, il montre le rôle des Spirochètes dans certaines stomatites.

Les travaux que Repaci, élève de Veillon, a publiés, en 1912, dans les *Annales de l'Institut Pasteur* et dans les *Comptes Rendus* de la Société de Biologie méritent de retenir spécialement l'attention. Cet auteur réussit à cultiver en anaérobie de nouvelles formes de Spirochètes de la bouche. Par les extraits que nous donnerons de ce travail on verra quelle précision caractérise le travail de Repaci. La culture, l'isolement, l'identification, l'étude expérimentale qui sont les grandes lignes de la méthode pasteurienne ont été réalisés. Ce travail est intéressant non seulement au point de vue des Spirochètes de la

bouche mais surtout pour la technique générale des anaérobies.

Depuis 1912 Noguchi a spécialement étudié, à l'Institut Rockefeller de New-York, la question de la culture des Spirochètes de la bouche comparant ces cultures à celles du Tréponème de la syphilis et cherchant des caractères différentiels. Certains auteurs tels que Sangiorgi, Weaver et Tunicliff, Goadby ont spécialement étudié la morphologie ; d'autres ont montré les bons résultats obtenus dans certaines ulcérations buccales par l'emploi de l'arsenobenzol (Gerber, Achard et Flandrin, Ravaut, Kolle). Il faut encore signaler parmi les travaux très récents (1920) l'article de Mendel à la Société de Biologie et la revue très complète de G. Maurel, dans la *Gazette des Hôpitaux*, sur la stomatite mercurielle.

Tels sont les principaux travaux parus sur la question ; la liste en est incomplète mais nous nous sommes efforcés de limiter l'historique aux travaux qui ont marqué une étape dans l'étude de la question. Il nous a paru intéressant et peut-être utile pour ceux qu'intéresse la question des Spirochètes, d'essayer de grouper en un travail d'ensemble les notions éparses dans la littérature scientifique. Nous décrivons donc successivement :

a) Dans un premier chapitre les caractères morphologiques des Spirochètes de la bouche et les moyens que le laboratoire met à notre disposition pour les étudier ;

b) Nous étudierons ensuite les caractères cultureux

de ces parasites et nous indiquerons en détail les techniques qui paraissent donner les meilleurs résultats ;

c) Dans le dernier chapitre nous examinerons les arguments qui ont été avancés pour ou contre le rôle pathogène des Spirochètes de la bouche et nous tirerons les conclusions.

CHAPITRE PREMIER

MORPHOLOGIE

Avant d'entrer dans la description morphologique des Spirochètes de la bouche, il nous paraît utile d'indiquer les procédés de technique qui permettent aujourd'hui un diagnostic rapide de ces parasites.

TECHNIQUE

1° Examen à l'état frais. — Il doit toujours être pratiqué. Le procédé de l'ultramicroscope est trop connu pour que nous y insistions autrement que pour rappeler les précieux renseignements qu'il fournit. A défaut d'ultra-microscope on peut employer le procédé à l'encre de Chine ou méthode de Burri. L'encre doit être conservée stérilement. Pour l'emploi on dépose, sur une même lame, côte à côte une goutte d'encre et une goutte du liquide à examiner ;

on mélange les deux gouttes et on étale sur la lame comme on pratique pour une goutte de sang. L'opération doit être exécutée aussi rapidement que possible. Après dessiccation on examine directement : les microorganismes ressortent en blanc sur le fond noir ou bleuâtre de l'encre : on obtient en somme un cliché négatif.

2° Colorations. — Deux sont surtout à retenir : les éosinates de bleu de méthylène (Giemsa, Leishmann, Laveran) et l'imprégnation argentique (Fontana-Tribondeau, Van Ermengen).

a) *Méthode de Van Ermengen.* — Utilisée pour les coupes. La formule du mélange est la suivante :

Acide gallique	5	grammes
Tanin	3	—
Acétate de soude	14	—
Eau distillée	350	—

On peut aussi employer la solution *forte* suivante :

Acide gallique	7	grammes
Tanin	3	gr. 5
Acétate de soude	14	—
Eau distillée	350	—

En une demi-heure la réduction est faite. On peut d'ailleurs laisser séjourner les pièces dans le réducteur pendant quarante-huit heures. Deux heures suffisent pour cette opération. En refroidissant le bloc de paraffine sous un jet continu d'eau fraîche pendant une dizaine de minutes, on peut immédiatement pratiquer les coupes.

b) *Méthode de Fontana-Tribondeau.* — Les frottis étalés en couche très mince sur des lames bien

dégraissées sont d'abord fixés pendant cinq minutes avec le mélange suivant :

Formol à 40° du commerce.....	2 cmc.
Acide acétique cristallisable....	1 —
Eau.....	100 —

on lave ensuite à l'alcool et on laisse sécher spontanément. On mordance pendant une demi-minute, en chauffant sur la flamme de la veilleuse, jusqu'à émission de vapeur, avec une solution de tanin :

Tanin à l'acool.....	4 grammes
Eau distillée.....	100 —

on lave largement à l'eau de conduite, puis à l'eau distillée. On recouvre les frottis avec une solution d'azotate d'argent ammoniacal ; on chauffe sur la veilleuse jusqu'à émission de vapeurs et on attend que le frottis ait pris une teinte violacée ou mordorée. On rince à l'eau distillée et on laisse sécher.

Avec ces méthodes, les Spirochètes se détachent très nettement en brun foncé sur le fond de la préparation qui a une teinte plus claire.

La préparation de l'azotate d'argent ammoniacal est un peu délicate : dans une solution d'azotate d'argent à 5 o/o, on verse goutte à goutte de l'ammoniaque qui finit par provoquer l'apparition d'un précipité qui se dissipe d'abord rapidement ; on ajoute de l'ammoniaque jusqu'au moment où la solution est légèrement opalescente ce qui est l'état à obtenir ; si ce point est dépassé on peut ajouter de la solution de nitrate et reprendre l'opération initiale.

c) *Méthode de Giemsa.* — Le réactif se trouve dans le commerce tout préparé. Les frottis sont fixés à l'alcool-éther. La quantité de colorant varie suivant qu'on emploie la méthode rapide (20 à 30 minutes) ou la coloration lente (24 heures).

Méthode rapide :

Réactif de Giemsa.....	1 cmc.
Eau distillée.....	14 —

Méthode lente :

Réactif de Giemsa.....	5 gouttes
Eau distillée.....	15 cmc.

La coloration doit être effectuée dans les boîtes de Laveran parfaitement propres. Les solutions doivent être préparées extemporanément dans des éprouvettes propres en évitant de laisser couler le colorant sur les bords. L'eau distillée doit être exempte de toute acidité. Après coloration on lave soigneusement à l'eau courante, on sèche entre deux feuilles de buvard et jamais sur la flamme.

d) *Méthode de Laveran-Borrel.* — On fixe les frottis à l'alcool-éther. On verse dans une boîte de Laveran : 4 centimètres cubes d'une solution aqueuse d'éosine à 1 o/o filtrée au moment même + 10 centimètres cubes d'eau distillée + 1 centimètre cube d'une solution de bleu Borrel filtrée au moment de l'emploi. La coloration demande quinze à vingt minutes ; on différencie rapidement avec une solution de tanin à 5 o/o ; on lave à l'eau et on sèche.

Le bleu Borrel bien préparé et vieilli est un excel-

lent colorant : dans un flacon de 150 centimètres cubes on met 1 gramme de nitrate d'argent et 50 centimètres cubes d'eau distillée. Après dissolution on remplit le flacon d'une solution de soude à 1 0/0 et on agite ; il se fait un précipité d'oxyde d'argent qu'on lave plusieurs fois à l'eau distillée ; la dernière eau de lavage est remplacée par une solution aqueuse saturée de bleu de méthylène. On laisse au contact trois mois avant d'utiliser.

E. *Méthode de Leishman*. — Les frottis ne doivent pas être préalablement fixés. Sur la lame placée dans une boîte de Pétri on verse 8 à 10 gouttes de réactif de Leishman (vendu dans le commerce) ; on ferme la boîte de Pétri pour éviter l'évaporation. Au bout de trois à quatre minutes on ajoute sur la lame une quantité égale d'eau distillée et on mélange. On laisse cinq à six minutes, on lave à grande eau et on sèche.

DESCRIPTION

Nous étudierons successivement :

- 1° *Spirochæta Vincenti*, R. Blanchard, 1906 ;
- 2° *Spirochæta dentium*, Koch, 1877 ;
- 3° *Spirochæta buccalis*, Cohn, 1875 ;
- 4° *Spirochæta media*, Mühlens et Hartmann, 1906 ;
- 5° *Spirochæta Repacii* ;
- 6° *Spirochæta mucosum*, Noguchi, 1912.

Dans un article paru en 1916, dans *Pathologica*

Sangiorgi a proposé une autre classification en Spirochètes A et B, Tréponèmes A et B avec des formes intermédiaires mais cette classification ne paraît pas marquer un progrès.

Spirochæta vincenti, R. Blanchard 1916. — On le rencontre en grande abondance non seulement dans l'angine dite angine de Vincent, mais aussi dans les stomatites, les gingivites le noma. Plaut avait voulu à tort, comme le fait remarquer R. Blanchard, l'identifier à *Spirillum sputigenum* qui est en réalité un Vibrion. *Sp. vincenti* est ordinairement associé à *Bacillus hastilis* Seitz.

Sur les préparations colorées d'abord par la méthode de gram et ensuite par la fuchsine diluée on voit que les Bacilles ont gardé le gram et que les Spirochètes sont colorés en rouge plus ou moins foncé. Ils sont isolés ou très souvent groupés en amas. La longueur de ces Spirochètes est très inégale suivant les individus. En règle générale les spires sont très déliées, lâches, irrégulières et peu nombreuses ; mais on peut trouver quelques Spirochètes avec des spires plus serrées et plus nombreuses. Ces Spirochètes s'éloignent assez sensiblement par leur forme du Tréponème de la syphilis. Collet et Horand ont insisté sur ce fait que lorsqu'on colore avec mordantage on trouve des Spirochètes à ondulations serrées qui n'avaient pas été colorées par la méthode précédente.

Parmi ces Spirochètes beaucoup présentent à l'ultra-microscope un double contour ; d'autres appa-

raissent sous l'aspect d'une ligne argentée unique.

Letulle a bien décrit leur mobilité « très fins, longs, contournés en tire-bouchon ; ils flottent dans les courants liquides et après être restés quelque temps immobiles, se meuvent brusquement se tendant et se détendant à la façon d'un ressort à boudin ».

Certains auteurs et en particulier Tuniciiff ont soutenu que *Sp. vincenti* et *B. hastilis* ne seraient en réalité que des formes diverses d'un même organisme.

Spirochæta dentium, Koch, 1877. Syn: *Spirillum dentium*, *Treponema microdentium*, *Treponema A* de Sangiorgi. — C'est le plus petit et le plus fin des Spirochètes de la bouche ; pour cette raison il pourrait être confondu avec *Tr. pallidum*, d'autant plus que sa coloration est difficile et souvent faible. Ce Spirochète se trouve en grande abondance dans le tartre dentaire et dans les dents cariées. Il présente des formes courtes ($4\ \mu$) et des formes longues ($15\ \mu$). Le nombre de tours de spire varie de 4 à 20 ; ces spires sont très régulières, elles sont moins espacées et moins profondes que celles de *Tr. pallidum* ; elles vont en s'atténuant aux extrémités. Les extrémités du parasite ne sont pas effilées, elles se terminent souvent par une sorte de crochet constitué par une spire plus lâche. Les mouvements de déplacement sont caractérisés par des ondulations lentes, des mouvements de vis ou de fléau. Voici la description qu'en donne Commandon : « Les mouvements sont peu rapides : il y a un mouvement de vis et un mou-

vement d'*anguille* parfois remplacé par un mouvement de fléau se faisant autour des cassures comme charnières. Contrairement au Spirochète de la syphilis qui, malgré ses mouvements, se déplace à peine au sein des liquides, *Sp. dentium* peut progresser assez rapidement dans les mêmes conditions cela grâce à ses extrémités en crochets dont il se sert comme de godilles pour avancer. Dans ces mouvements les spires de *Sp. dentium* restent parfaitement régulières : on ne voit pas cette onde d'étirement que nous avons signalée chez le Spirochète pâle. »

Spirochæta buccalis, Cohn, 1875. Syn : *Spirillum buccale*, *Treponema macrodentium*, *Spirochæta A* de Sangiorgi. — Il a été trouvé par Cohn dans la salive, mais on le rencontre particulièrement dans le tartre dentaire, dans l'enduit muqueux des gencives. C'est un gros Spirochète, c'est le plus gros des Spirochètes de la bouche : il mesure environ $2\ \mu$ de large sur 10 à 20 μ de long. Les spires au nombre de 3 à 10 sont larges, peu profondes, irrégulières. A l'ultra-microscope le Spirochète présente deux traits brillants latéraux ce qui le distingue des autres Spirochètes. L'aspect du parasite change facilement : au repos il n'y a le plus souvent que 2 ou 3 tours de spires lâches, espacées ; les mouvements sont vifs, saccadés, irréguliers dans le temps, ces mouvements sont en ondulations ou hélicoïdaux ; les spires du parasite deviennent alors nombreuses, serrées et régulières ; ces courbures n'étant pas dans un même plan réfléchissent inégalement la lumière si bien

qu'on aperçoit une succession de plages lumineuses, espacées plus ou moins régulièrement. *Sp. buccalis* se colore bien par le giemsa ou même par le violet de gentiane. Il présenterait un long cil terminal et pas de cils latéraux ; Schaudinn, Höffmann et Pro-wazeck croient avoir constaté la présence d'une membrane ondulante mais ce fait n'a pas été confirmé.

Spirochæta media, Mühlens et Hartmann, 1906. Contrairement à l'opinion des auteurs allemands qui ne décrivaient qu'une forme intermédiaire, Commandon se basant sur l'examen à l'ultra-microscope, ne distingue pas moins de six types principaux de Spirochètes dans cette variété dite « forme intermédiaire ». Voici la description qu'il en donne :

1° *Type a*. Est moins gros que *Sp. buccalis* ; au lieu d'être limité par deux traits brillants, il est d'une teinte opaline uniforme. Les mouvements sont en général plus énergiques, plus rapides que chez ce dernier.

2° *Type b*. Environ deux fois moins large que le type précédent ($1\ \mu$), sa teinte est opaline, peu brillante. Ses extrémités sont arrondies, sa longueur moyenne est de $20\ \mu$, mais les formes beaucoup plus longues ou beaucoup plus courtes ne sont pas rares. Ses spires au repos sont très allongées (3 ou 4 pour les formes de $20\ \mu$) et régulières : il est presque rectiligne. En mouvement, les spires sont beaucoup plus accentuées, elles deviennent nombreuses et sont

toujours régulières. Ce mouvement est hélicoïdal, parfois aussi en même temps sinusoïdal.

3° *Type c.* Ses dimensions sont à peu près celles du précédent mais ses extrémités sont *très effilées*. Il est très transparent ; certains segments du corps sont donc à peine visibles ; d'autres, au contraire, réfléchissant la lumière, sont très brillants. Ces parties sombres et brillantes alternent très régulièrement. Les spires allongées (5 ou 6 pour 20μ) sont très régulièrement enroulées autour d'un axe rectiligne. Le mouvement est presque exclusivement autour de cet axe (en vis). Il a l'aspect d'une baguette de verre tordue en vis d'Archimède qui avancerait ou reculerait dans le liquide.

4° *Type b.* Plus mince que les précédents mais un peu plus épais que *Spirochæta dentium* plus brillant que le type *b*. Longueur moyenne 10μ . Il est très irrégulier dans sa forme comme dans ses mouvements. Il se meut surtout par des mouvements d'anguille, il rampe sur la lame et se tord à la façon d'un Ver de terre. Les formes mortes ou immobiles pourraient être confondues avec des Spirochètes pâles altérés, comme on en trouve dans les croûtes de chancre.

5° *Type e.* Ces Spirochètes assez réguliers comprennent deux ordres de spires superposés : un premier axe autour duquel le filament est enroulé, s'enroule lui-même en hélice autour d'un deuxième axe.

Comme épaisseur du filament et grandeur des spires du premier ordre, ce Spirochète se rapproche

de *Spirochæta dentium*. Il est cependant un peu plus gros ; la profondeur de ces spires est souvent réduite au minimum ; il est alors, pour ainsi dire, tordu sur lui-même. Les spires de deuxième ordre sont larges et profondes ($4\ \mu$). La longueur de ce Spirochète est parfois considérable ($35\ \mu$). Les mouvements sont énergiques, parfois réguliers, plus souvent irréguliers ; tantôt en vis, tantôt sinusoïdaux. Au repos ce Spirochète garde ses deux ordres de spires.

6° *Type f*. Il ressemble au type *a*, mais est beaucoup plus petit. Son épaisseur est à peu près celle de *Spirochæta pallida* examiné dans l'eau. La longueur est très variable ainsi que le nombre des spires. Au repos certaines formes sont presque rectilignes, d'autres ont, au contraire, des spires bien formées et peuvent alors ressembler beaucoup à des parasites de la syphilis. Mais son mouvement est bien différent, il est irrégulier et saccadé ; dans le repos les spires se relâchent beaucoup. Le mouvement de vis est parfois tellement vif que l'on ne peut plus distinguer les spires ; dans ce cas le parasite a une translation extrêmement rapide. C'est à ce type que nous rattachons ces sortes de « dards » qui traversent certaines préparations de balanite érosive ou d'enduit dentaire.

Spirochæta Repacii. — En étudiant la culture des Spirochètes de la bouche, Repaci a isolé en 1912 un Spirochète qui par ses caractères morphologiques et culturels se différencie nettement des autres. Nous aurons l'occasion de revenir longuement sur ses

caractères au chapitre suivant qui traitera de la culture des Spirochètes. Nous pouvons indiquer dès maintenant qu'il est moins épais, possède des spires moins lâches que *Sp. buccalis* et qu'il ne présente pas de cil terminal. Les caractères cultureux le différencient nettement de *Sp. dentium* ainsi que son affinité tinctoriale.

Treponema mucosum Noguchi, 1912. — Isolé par l'auteur du pus d'une pyorrhée alvéolo-dentaire. Noguchi l'obtient en culture pure dans son milieu gélose-ascite additionné de fragment d'organe. Les caractères morphologiques ne permettent pas de différencier *Tr. mucosum* de *Tr. microdentium* ou de *Tr. pallidum*. Seuls les caractères cultureux ont une valeur, si bien que nous reportons l'étude de ce parasite au chapitre culture.

RAPPORT DES SPIROCHÈTES ENTRE EUX ET MODE DE GROUPEMENT

Les Spirochètes dont nous venons de donner la description se rencontrent en proportions très variables dans la bouche ; le type de Spirochète trouvé varie beaucoup suivant l'état de la bouche et suivant l'endroit où le prélèvement a porté. C'est le Spirochète de l'angine de Vincent qui est associé le plus ordinairement au Bacille fusiforme, mais celui-ci peut être associé dans les lésions de la bouche à des formes de Spirochètes beaucoup plus fines. Il existe cependant une certaine spécificité. Les prépa-

rations montrent parfois, pour un point déterminé, un seul type de Spirochètes en nombre souvent considérable. Noguchi par des préparations directes et par des cultures a pu établir les faits suivants : la petite forme est surtout abondante dans la tartre dentaire (entre dent et gencive) ainsi que dans la cavité des dents cariées ; quant à *Sp. buccalis* et au type intermédiaire on les rencontre plus fréquemment dans le mucus amygdalien ou pharyngé ainsi que dans la stomatite ulcéreuse.

RAPPORT AVEC LES BACTÉRIES DE LA BOUCHE

Dans les maladies de la bouche on trouve souvent des Spirochètes associés à des Bactéries. Nous avons déjà parlé de l'association de *Sp. Vincenti* et de *Bacillus hostilis* ; elle est trop connue pour que nous y insistions. Il est vraisemblable qu'il existe d'autres associations de Bactéries et de Spirochètes mais c'est la question de la flore buccale en général qui se poserait et une telle question sortirait du cadre de notre sujet. Nous pouvons renvoyer en particulier à l'article de Mme Braïlowsky Lounkevitch paru dans les *Annales de l'Institut Pasteur* en 1915. Retenons cependant quelques détails de la flore buccale.

Chez le jeune enfant l'espèce microbienne prédominant dans la bouche est un streptocoque ; on rencontre aussi accidentellement quelques microbes aérobies et des anaérobies facultatifs. Mais dès que les dents apparaissent la flore change ; c'est alors

que les Spirochètes apparaissent ainsi que des anaérobies stricts. Chez l'adulte, dans les bouches normales, tenues en bon état d'hygiène, la salive a une réaction neutre ou légèrement alcaline, on trouve une flore aérobie ou anaérobie facultative. Au contraire si la bouche est mal tenue la flore anaérobie prédomine ; les Spirochètes, les Vibrions, les Leptothrix attaquent les albuminoïdes qui ont subi un début d'hydratation. Ce sont eux qui, probablement, par destruction de produits peptonisés, donnent l'odeur particulière des bouches mal tenues. Il est probable aussi que c'est elle qui favorise l'attaque ultérieure de la dentine et qui directement ou indirectement cause la carie dentaire.

CHAPITRE II

CULTURE

Les essais de culture des Spirochètes de la bouche présentaient un double intérêt : d'abord le fait d'obtenir des cultures pures pouvait, en permettant l'inoculation aux animaux, aider à résoudre le problème si discuté du rôle pathogène des Spirochètes ; ensuite on pouvait espérer que ce fait aurait une portée générale, et qu'une bonne technique pour la culture des Spirochètes de la bouche pourrait s'appliquer

à des organismes plus délicats tels que le Tréponème de la syphilis.

De nombreuses tentatives ont été faites ; nous ne retiendrons que les principales mais nous donnerons les techniques avec quelques détails. C'est ainsi que nous étudierons successivement les techniques de Mülhens et Hartmann, de Veillon et Repaci, de Noguchi, de Shimamine.

I. — TECHNIQUE DE MUHLENS ET HARTMANN

Ces auteurs furent les premiers à isoler et à cultiver des Spirochètes de la bouche. Ils conservèrent pendant cinq mois une culture de *Sp. dentium*. Leur milieu de culture est le milieu d'Ellermann : avec de la gélose neutre ou légèrement alcaline (gélose à 3 o/o) on remplit à moitié des tubes à essai qu'on maintient pendant une demi-heure à 100 degrés dans un bain-marie. Du sérum de cheval est chauffé une demi-heure à 60 degrés. Après avoir refroidi à 45 degrés la gélose et le sérum on mélange dans la proportion d'un tiers de sérum pour deux tiers de gélose. On ensemence et on refroidit brusquement.

II. — TECHNIQUE DE VEILLON ET REPACI.

Repaci a eu l'idée, en 1912, d'appliquer à l'étude des Spirochètes de la bouche la méthode que Veillon a indiquée et employée avec tant de succès pour l'étude des anaérobies. Grâce à cette méthode qui est

d'une simplicité extrême Repaci a pu isoler plusieurs types de Spirochètes. Le milieu employé est la gélose Veillon qui donne des résultats très constants à condition d'être fabriquée avec soin. Aussi croyons-nous utile de rappeler la technique de sa préparation :

- 1° Faire macérer jusqu'à putréfaction 500 grammes de viande dans un litre d'eau ;
- 2° Passer sur une mousseline et exprimer ;
- 3° Ajouter par litre de macération :

Peptone Chapoteaut.	10 gr.
Sel marin	5 gr.
Gélose	10 gr.

- 4° Chauffer à 100 degrés pendant 10 minutes ;
- 5° Alcaliniser à la sonde ;
- 6° Chauffer dans l'autoclave pendant 30 minutes à 120 degrés ;
- 7° Laisser refroidir au-dessous de 60 degrés ;
- 8° Ajouter par litre :

Glucose	7 gr.
Nitrate de potasse	2 gr.

Ces produits ont été préalablement dissous dans un peu d'eau chaude ; ajouter aussi deux blanc d'œuf battus ;

- 9° Chauffer à l'autoclave pendant 30 minutes à 115 degrés ;

10° Filtrer sur papier Chardin et distribuer dans des tubes flambés sur 10 centimètres cubes de hauteur au moins ; stériliser par chauffage discontinu, trois jours de suite, trente minutes à 100 degrés.

Pour obtenir des cultures de Spirochètes dans ce milieu il est nécessaire de faire des dilutions très soigneuses, après avoir dissocié dans le premier tube le tartre dentaire. Repaci procédait de la façon suivante : Le tube dans lequel a été faite cette dissociation minutieuse du tartre est placé pendant quelques minutes dans l'eau chaude à 37 degrés environ. Les gros paquets de tartre dentaire, insuffisamment dissociés, tombent au fond ; les Spirochètes libérés des autres microbes par la dissociation, étant très mobiles, nagent dans la partie supérieure du liquide. C'est de cette partie qu'il faut prélever le liquide à ensemercer dans les autres tubes par le procédé des dilutions successives ; il faut ensemercer une quinzaine de tubes sans recharger.

Voici d'après Repaci les caractères des Spirochètes isolés par cette technique. Il distingue quatre espèces :

1° *Spirochète A.* — Anaérobie strict, il pousse lors du premier ensemencement, vers le huitième jour ; mais dans les repiquages ultérieurs, il se développe plus vite, dans un délai de quatre à cinq jours seulement. Les colonies se présentent sous la forme de petits points translucides, ressemblant à des gouttelettes de rosée, très difficiles à apercevoir si on n'a pas soin de regarder les tubes à une lumière très intense. Au contraire lorsque le microbe est suffisamment habitué à nos milieux artificiels, les colonies deviennent plus transparentes et peuvent atteindre, si elles sont suffisamment espacées, un diamètre d'environ un 1/2 à 2 millimètres. Elles sont

alors discoïdes, à bords tranchants, luisantes, le centre de la colonie est de teinte saumonée.

La température optima est de 37 degrés, ce germe ne pousse pas à la température ordinaire. Il ne produit pas de gaz, les cultures répandent une faible odeur acétique qui disparaît très vite. Il pousse faiblement dans les milieux liquides. Le bouillon reste clair, mais, en l'agitant, on voit des ondes soyeuses ; au bout d'une vingtaine de jours un faible dépôt se forme au fond des tubes. Il n'utilise sensiblement pas le glucose, ni le saccharose, ni la dextrine, mais il semble attaquer légèrement le lactose. Le lait est acidifié très lentement, mais il n'est pas coagulé. Le blanc d'œuf cuit ne subit pas d'attaque. La vitalité du germe à l'étuve, en tubes capuchonnés, est d'une vingtaine de jours.

L'étude en goutte pendante, avec l'objectif à immersion et sans éclairage spécial, montre des amas de spirochètes enchevêtrés, agglutinés entre eux, très réfringents. C'est en observant les individus libres qui se trouvent souvent à la périphérie des amas, ou en dissociant les amas, que l'on peut étudier les mouvements singuliers de ce parasite. On constate d'abord que le microorganisme se comporte comme un véritable ressort spiralé, les tours de spires se rapprochant ou s'éloignant alternativement les uns des autres ; en même temps, la spirale peut subir des torsions latérales dans tous les sens, ce qui montre sa grande flexibilité. Il offre deux types principaux de mouvements : des mouve-

ments latéraux, qui se font sur place, par une sorte d'oscillation pendulaire extrêmement rapide, et des mouvements de translation, qui s'opèrent par rotation autour de l'axe longitudinal. Ces derniers, — véritables mouvements de vrille, — ont lieu soit en avant soit en arrière, avec une rapidité et une brusquerie remarquables, le microorganisme passant par saccades de l'état de repos à l'état de mouvement.

Le nombre des spires, lesquelles sont préformées et ne disparaissent pas à l'état de repos, est très variable. A côté des éléments très courts, qui ont l'aspect d'un vibrion ou d'un *S* italique, on voit des éléments qui peuvent varier de deux tours de spire complets à une vingtaine et plus. On conçoit donc qu'il est bien difficile de pouvoir déterminer avec exactitude les dimensions longitudinales du microorganisme. Elles varient selon le nombre de spires dont chaque élément est pourvu. Plus facile à déterminer est son épaisseur, qui est presque toujours égale : $1/3$ de μ à 1μ environ.

Les caractères des tours de spires sont tout à fait spéciaux. L'examen à l'état vivant montre que le corps ne se trouve pas tout entier sur le même plan : on a donc affaire à une spirale complète, comme celle d'une vis. Les spires sont régulières et parallèles et forment une spirale complète. La profondeur de la spire est d'environ 1μ , la longueur de 1 à 2μ . Si l'on veut bien comparer ces dimensions avec celles données par Mühlens et Hartmann pour *Sp. dentium*, on

conçoit la très grande différence d'aspect qu'il y a entre ce Spirochète et *Spirocheta dentium*.

Dans les cultures âgées d'une dizaine de jours, on peut remarquer des éléments extrêmement développés. Ils sont très longs, enroulés sur eux-mêmes, entortillés dans tous les sens et donnent l'impression de ficelles jetées à terre au hasard ; d'autres ont tout à fait l'apparence d'une natte de cheveux. On pourrait penser, au premier abord, à une division longitudinale du microorganisme ; il n'en n'est rien : on voit que c'est un élément qui s'est enroulé sur lui-même très exactement, ou deux éléments accolés l'un à l'autre.

Ce Spirochète se colore facilement et uniformément et presque instantanément par tous les colorants ordinaires. Il ne prend pas le Gram. Il n'existe jamais, dans les cultures jeunes, ni espaces clairs ni points plus intensément colorés. Les contours sont très nets, le corps microbien cylindrique. Traité par le Giemsa, il prend une coloration bleuâtre. Les extrémités du Spirochète sont arrondies ; quelques éléments ont un crochet terminal. Il n'existe pas d'ébauche de membrane ondulante.

Ce microorganisme n'a aucune action sur les animaux de laboratoire.

2° *Spirochète B.* — Anaérobie strict. Dans les tubes d'isolement il pousse après trois jours, sous la forme d'une colonie discoïde, à bords nets, régulière, luisante et transparente, blanchâtre à la périphérie, jaunâtre au centre, d'un diamètre d'un mil-

limètre au plus. Cet aspect change profondément si on ajoute au milieu un tiers de sérum de Cheval, chauffé une demi-heure à 55°. Dans ce cas les colonies deviennent rondes volumineuses et prennent l'aspect de petites boules de diamètres variant entre 2 et 4 millimètres. Elles sont blanches, nuageuses et montrent à la périphérie une efflorescence de très fins et courts prolongements. L'expérience montre que l'addition de sérum n'agit qu'en diminuant la densité de la gélose. Culture presque nulle dans les bouillon sucré ou dans le bouillon pomme de terre. La température optima est 37° pendant quarante-huit heures. Pas de développement à la température ordinaire. Sa vitalité dans les tubes gardés à l'étuve est de cinq à six jours, mais il est utile de repiquer la culture tous les quatre jours, car, passé ce délai, il arrive souvent que le parasite soit déjà mort. Quand les colonies sont suffisamment développées, on peut les garder un peu plus longtemps vivantes à la température ordinaire.

Examiné en goutte pendante, cet organisme se présente sous l'aspect polymorphe de bâtonnets incurvés à la façon d'un vibrion, ou de bâtonnets avec une ébauche de spire, en *S* italique, ou absolument comme de véritables Spirochètes à 4, 5, 6, 8 tours de spire complète.

Les éléments les plus simples, en formes de Vibrions, ressemblent à s'y méprendre au *B. fusiforme* de Vincent par ses extrémités nettement pointues et par ses dimensions longitudinales. D'ailleurs

on a l'impression qu'il est un peu plus mince. Mais, à côté de ces éléments qui sont relativement rares dans les cultures du début, on voit les éléments longs qui ont l'aspect d'un véritable *Spirochète*, à plusieurs tours de spire complète. Il est à remarquer cependant que les tours de spire sont différents de ceux du *Spirochète A*, à cause de leur profondeur et de leur largeur, car, d'une façon générale, ils sont plus amples et moins profonds. Il s'agit d'une spirale complète, préformée, qui reste telle quelle quand l'organisme est au repos. La mobilité est extrêmement marquée. Ses mouvements sont ceux précédemment décrits pour *Spirochète A* (mouvements pendulaires, mouvements en avant et en arrière, mouvements de vrille, etc.).

Ce microorganisme, habitué de plus en plus au milieu artificiel, montre une tendance manifeste à devenir toujours plus court. Après une dizaine de repiquages, les éléments sont presque tous en *S* italique ou possèdent deux ou trois tours de spire au maximum, tandis que les formes longues deviennent de plus en plus rares.

Ce *Spirochète* se colore difficilement avec les colorants ordinaires. La fuchsine diluée ne le colore pas du tout et le violet de gentiane le colore très peu. On peut employer le Ziehl à chaud, mais la coloration élective est le mélange de Giemsa qui le colore en bleu pâle par la méthode rapide et en bleu très foncé par la méthode lente. La méthode de Burrie est très commode pour mettre ce parasite en évidence. On

peut ainsi montrer la présence de deux cils qui s'implantent aux deux extrémités ; ils sont très minces, très flexueux. Mais il est absolument impossible de mettre en évidence, dans les formes longues, la présence de cils : ils ne sont évidents que dans les formes courtes. Il est vrai aussi qu'il est extrêmement difficile d'obtenir de bonnes préparations. Les colonies ne se dissocient qu'avec peine, et malgré tous les soins et les lavages il reste toujours accolé à leurs corps un peu de la substance du milieu nutritif, ce qui gêne beaucoup pour la coloration et l'examen de détails si délicats. Il est donc nécessaire de faire des réserves sur la ciliation de ce microbe, qui est indéniable, il est vrai, mais impossible à déterminer d'une façon tout à fait sûre. Il se reproduit, comme le premier, par division transversale. Il ne produit pas de spores. Les cultures dégagent une odeur de putréfaction.

Ce microbe, inoculé au Cobaye, produit une nécrose très superficielle de la peau, avec formation d'abcès, mais l'animal guérit après deux semaines. On obtient de même un petit abcès chez le Lapin, qui guérit en peu de temps.

3° *Spirochète C.* Anaérobie strict. Les colonies apparaissent lors du premier ensemencement, au cinquième jour environ. Elles sont discoïdes, à bords nets, de couleur jaune safran très nette, d'un diamètre de 1 millimètre environ. Dans les ensemencements ultérieurs, les colonies apparaissent vers le deuxième jour, mais elles sont petites, à peine

visibles. Elles grossissent ensuite et peuvent atteindre dans un milieu suffisamment fluide, des dimensions considérables. Dans ce cas, elles perdent l'aspect discoïde et prennent la forme de petites boules d'un bleu jaunâtre avec un centre plus fortement coloré, qui tranche nettement sur le reste de la colonie. Le diamètre des colonies, si elles sont espacées, peut atteindre jusqu'à 3 ou 4 millimètres. Ce parasite cultive indifféremment dans la gélose ordinaire ou dans la gélose-sérum ; la température optima est 37 degrés. Les cultures dégagent une odeur légèrement fétide. La vitalité est de cinq à six jours. L'étude en goutte pendante montre qu'il s'agit d'un Spirochète pourvu de 2 à 4 tours de spires complètes. Les mouvements sont les mêmes que ceux de A et B. En règle générale, ce Spirochète possède une tendance assez nette à conserver toujours le même aspect. Son épaisseur est presque égale à celle de l'espèce A, mais les spires, tout en étant régulières et parallèles, sont nettement différentes de celles que nous avons reconnues dans l'espèce A. Elles sont un peu moins serrées et moins profondes, car la profondeur de la spire, bien qu'évidente et nette, est à peine ébauchée. Les spires, comme dans les variétés précédentes, sont préformées et persistent aussi quand le microbe est à l'état de repos. Il se colore faiblement par les colorants ordinaires. Pour obtenir des images nettes, il faut faire agir un peu longuement le colorant. La méthode de Burri donne de bons résultats. Ce Spirochète posséderait 5 à 6 cils.

Il n'y a pas de membrane ondulante. La division est transversale. Pouvoir pathogène nul pour les animaux de laboratoire.

4° *Spirochète D.* — Anaérobie strict. Il pousse en gélose sucrée au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures, sous la forme de colonies rondes, irrégulières, moniformes, d'une couleur rougeâtre, de tailles différentes. Elles ont un diamètre de 2 millimètres environ, mais dans les tubes où elles sont très espacées, elles peuvent atteindre des proportions énormes, de 5 millimètres de diamètre, et se présenter sous l'aspect d'une valve d'huître.

Après quelques passages dans les milieux artificiels, on obtient des colonies punctiformes, de coloration nettement saumonée, avec centre plus opaque de même couleur, mais plus foncée, entourées d'un halo cotonneux, beaucoup plus pâle, d'où partent de très fins prolongements donnant à la colonie l'aspect d'une châtaigne.

L'examen de ces colonies, en goutte pendante, montre un organisme incurvé, extrêmement mobile, d'une épaisseur peu supérieure à $1\ \mu$, à extrémités arrondies et très souvent pointues. La longueur des différents éléments est variable. Certains ont la taille du fusiforme, mais, en général, ils sont plus longs, de 10 à 15 environ.

A l'état de repos, ils se présentent ou incurvés comme des Vibrions, ou sous l'aspect d'un *S* italique de grande dimension. Mais quand ils se déplacent les corps microbiens forment des spires régulières,

parallèles l'une à l'autre, très nombreuses. Les mouvements de translation s'opèrent par rotation autour de l'axe longitudinal et ils sont parfaitement superposables à ceux que présentent les espèces précédentes.

La coloration est difficile : le giemsa donne les meilleurs résultats. Les cultures ont une faible odeur de putréfaction ; inoculées au cobaye elles donnent une eschare et sous cette eschare un abcès contenant du pus dense et crémeux mais qui guérit en une dizaine de jours.

III. — TECHNIQUE DE NOGUCHI

Dans une série de publications parues depuis 1912 Noguchi, de l'Institut Rockefeller, a indiqué les principes de sa méthode de culture des Spirochétidés de la bouche et en particulier de *Tr. microdentium*. Voici cette technique :

a) *Premier temps.* — Prélever un petit fragment de tartre dentaire, le dissocier, et semer dans le milieu suivant : sérum de Lapin dilué dans l'eau physiologique (1 pour 5) et contenant un fragment de tissu stérile (testicule ou rein de Lapin). Le milieu ainsiensemencé est recouvert de paraffine stérile. L'ensemencement doit être fait dans une assez grande quantité de milieu pour chaque tube et il est bon d'ensemencer 3 tubes. Mettre à l'étuve à 37° pendant dix jours. Sous l'influence des Bactéries le milieu peut devenir nettement ou légèrement coagulé. Au

bout de dix jours, on prélève avec une pipette capillaire au fond du tube, une petite quantité de culture ; on examine à l'ultra-microscope ou après coloration : on voit habituellement un grand nombre de petits spirochètes actifs mais qui sont mélangés à des Bactéries diverses.

b) *Deuxième temps.* — Il consiste à séparer les Spirochètes des Bactéries. A cet effet, on prend une série de grands et larges tubes contenant un mélange de sérum et de gélose (dans la proportion de 1 à 3) additionné d'un fragment de tissu stérile (lapin ou mouton).

Avec une pipette capillaire contenant une partie de la culture impure piquer dans la partie *médiane* du mélange sérum gélose ; il faut opérer avec beaucoup de soin en se tenant dans la partie médiane, perpendiculairement à la surface du milieu et en piquant jusqu'au fond du tube. Le contenu de la pipette est ensuite poussé au fond ; il faut avoir soin de ne pas faire éclater la gélose avec l'air ainsi comprimé ; ne pas vider complètement la pipette au fond, de façon àensemencer la ligne de gélose en retirant la pipette. Le milieu est ensuite recouvert d'une couche de paraffine et les tubes sont placés à l'étuve à 37°.

Au bout de dix à quinze jours on voit dans les tubes une masse « nuageuse » constituée par des colonies de Spirochètes qui se sont développées autour de la ligne médiane qui est maintenant rem-

plie par une masse blanchâtre formée par les colonies microbiennes.

c) *Troisième temps.* — Lorsque la zone des colonies « brumeuses » a pris assez d'extension pour qu'on puisse en prélever sans toucher à la ligne médiane d'ensemencement, on coupe le tube de verre et la colonne de gélose. Avec une pipette capillaire on fait un prélèvement dans cette zone externe : on y trouve une grande quantité de Spirochètes mobiles et on peut alors repiquer dans un milieu neuf. Si le premier repiquage n'a pas donné un isolement parfait on peut recommencer la même technique.

Voici les résultats que *Noguchi* a obtenus avec cette technique.

Tr. microdentium. — La culture commence à être perceptible après soixante-deux heures à 37 degrés et se développe lentement. Le parasite montre des extrémités effilées avec un prolongement flagelliforme, à une ou deux extrémités. Le sérum est coagulé avec virage du tournesol en quinze jours environ ; au bout de ce temps la culture dégage une odeur fétide. L'inoculation des cultures dans la région sus-orbitaire de *Macacus rhesus* ou dans les testicules du Lapin ne produit qu'une induration passagère (24 heures).

Tr. macrodentium. — Les formes de culture sont comparables à celles que l'on trouve sur les préparations directes et dont nous avons déjà donné la description.

Pour l'une et l'autre variété, la présence d'oxy-

gène dans les cultures détermine l'apparition de formes d'involution qui se perpétuent dans les cultures où l'on maintient un peu d'oxygène mais qui disparaissent si on replace les parasites dans des conditions d'anaérobiose stricte.

Tr. mucosum. — La culture de ce microorganisme était d'autant plus importante à réaliser qu'il est sur les préparations directes, très difficile à différencier de *Tr. pallidum*.

NOGUCHI l'a isolé en partant du pus d'une pyorrhée alvéolo-dentaire. Ce germe est un anaérobie strict. Il donne une culture plus abondante et une odeur plus fétide que *Tr. microdentium*. La présence d'un fragment de tissu n'est pas indispensable dans les milieux de culture. Inoculé sous la peau ou dans les testicules de *Macacus rhesus* le produit de culture ne donne rien, s'il s'agit d'une culture en milieu liquide; il donne au contraire une suppuration fétide dans le testicule s'il s'agit d'une culture en gélose. Le caractère le plus intéressant est la production de mucine : en brisant la gélose on obtient des filaments tenus, non visqueux. Après cent soixante jours de vie en culture, le Spirochète ne produit plus de mucine mais donne encore une odeur fétide.

IV. — TECHNIQUE DE SHIMAMINE

Ce milieu qui a été utilisé par différents auteurs pour la culture des Spirochètes est composé de la manière suivante :

On mélange ogr.50 à ogr.75 de nucléinate de soude à 100 centimètres cubes de sérum de Cheval; on agite jusqu'à dissolution complète. On fait passer, à travers la solution, un courant d'anhydride carbonique pendant trois ou quatre minutes jusqu'à ce que le sérum deviennent transparent. Le liquide est chauffé, pendant trois jours consécutifs, une heure à 60 degrés. Le quatrième jour, il est chauffé à 65 degrés, pendant trente minutes jusqu'à séparation en deux parties une liquide, une solide.

Dans ce milieu Shimamine a obtenu, en 1912, une culture pure de *Sp. dentium*. Les colonies se présentent sous la forme de sphères blanchâtres, transparentes, mal délimitées par rapport au milieu ambiant et qui échapperaient à une observation superficielle. Les cultures dégagent une odeur désagréable.

La culture des Spirochétidés de la flore buccale a permis d'obtenir des caractères différentiels intéressants avec *Treponéma pallidum*. Car s'il est fort difficile de cultiver ce Tréponème il n'est pas indifférent de savoir que des germes qui pourraient à l'examen direct prêter à confusion avec lui peuvent être cultivés et présenter des caractères cultureux assez précis pour permettre l'identification. Car si certains

Spirochètes de la bouche, tels que *Sp. macrodentium* sont faciles à différencier morphologiquement de *Sp. pallidum*, d'autre tels que *Sp. microdentium* sont souvent d'une identification fort difficile. Les caractères culturaux que nous venons de donner seront donc d'un grand secours dans les cas difficiles.

Enfin il faut ajouter que les Spirochètes de la bouche ne jouent aucun rôle dans la réaction de Wassermann. Des extraits testiculaires très riches en ces Spirochètes ne fournissent pas un antigène plus actif que des organes normaux. Les cultures pures de ces Spirochètes ne donnent pas de déviation du complément avec du sérum syphilitique mais en donnent avec le sérum de Lapin préparé avec des extraits de ces mêmes Spirochètes.

CHAPITRE III

ROLE PATHOGÈNE

La question du rôle pathogène des Spirochètes de la bouche est fort complexe ; on trouve souvent des Spirochètes dans les lésions buccales, mais il est souvent difficile de préciser la variété, d'isoler le germe et de reproduire expérimentalement la lésion. Des faits intéressants ont été cependant rapportés, particulièrement en ce qui concerne la stomatite

ulcéreuse et la stomatite mercurielle ; ils méritent d'être signalés.

a) *Recherches cliniques.* — La grande majorité des auteurs s'accorde à reconnaître le rôle de l'association fuso-spirillaire dans la stomatite ulcéreuse. Seuls Vincent, Marfan, Paiseau décrivent plusieurs formes bactériologiques. Pour la stomatite mercurielle l'association fuso-spirillaire a été signalée et étudiée depuis longtemps (Lesueur, Nicolle, Rona, Montot). Lesueur paraît avoir été le premier à signaler le fait, Rona, dans son mémoire sur les différentes localisation du *B. fusiforme*, étudie plusieurs cas de stomatite mercurielle dans lesquels la symbiose paraissait nettement être en cause et soutient cette étiologie contre l'opinion de Loblowitz.

Cette question a été reprise, plus près de nous, particulièrement dans les thèses de Lagarde, de Le Blaye et dans une revue générale de Maurel. Lagarde montre qu'on trouve toujours à la surface des ulcérations le Bacille fusiforme associé soit à un Spirochète du type de celui de Vincent soit au Spirille décrit par Miller.

b) *Faits expérimentaux.* — Les recherches de Le Blaye ont porté surtout sur les inoculations expérimentales et voici les résultats qu'il a obtenus :

Les Lapins et les Cobayes ne sont pas réceptifs. Mais quand on soumet des Chiens à l'absorption de doses de mercure atteignant par kilogramme cinq à dix fois la dose employée en thérapeutique humaine, il survient au bout de peu de jours des lésions inflam-

matoires de la bouche. Une légère gingitive apparaît tout d'abord, puis il se développe des plaques ulcéro-gangréneuses sur les parties de la muqueuse qui se trouvent au contact des dents. Si l'on prolonge l'intoxication, la maladie s'aggrave et le Chien meurt d'une cachexie rapidement progressive à laquelle contribuent le refus de toute nourriture et des accidents de côlite hémorragique. L'examen microscopique de l'exsudat recueilli à la surface des plaques de la stomatite du Chien montre, au milieu d'une flore bactérienne très riche, de nombreux Bacilles fusiformes et des Spirochètes identiques à ceux décrits par Vincent dans l'angine ulcéreuse. Voici, par exemple, le résumé d'une expérience sur le Chien :

Un chien adulte, pesant 12 kilos, vigoureux, ayant des gencives et des dents en bon état, sert de sujet d'expérience. Sa flore buccale est préalablement étudiée tant par l'examen direct qu'à l'aide de cultures. Ce Chien reçoit, dans la région lombaire, deux injections de 0 gr. 05 de calomel à huit jours d'intervalle. On constate d'abord une légère rougeur du rebord gingival à la racine des incisives supérieures droites. Progressivement la zone inflammatoire s'accroît. Quinze jours après la première injection il apparaît de petites ulcérations sur la face interne des lèvres, dans la région correspondant aux canines. Les dents se recouvrent d'un enduit grisâtre vers le collet. Quelques jours après, de nombreuses ulcérations se sont formées sur la face interne des lèvres elles con-

fluent en une bande ulcérée, grisâtre à la face interne des lèvres supérieures des deux côtés de la mâchoire. A chacune des canines correspond une ulcération brunâtre, sanieuse, à base infiltrée ; la langue ne présente pas d'ulcérations. Deux jours avant la mort de l'animal, les ulcérations de la bouche ont pris un aspect gangréneux, gris brunâtre ; elles correspondent à la face externe des dents sur lesquelles elles s'appliquent, du reste, lorsqu'on laisse reprendre aux lèvres, qu'on avait écartées de leur position naturelle. Les dents sont elles-mêmes recouvertes d'un enduit grisâtre, abondant, près du rebord gingival qui est à peine ulcéré. L'haleine est fétide. Des prélèvements faits aux différents moments de la maladie, au niveau des ulcérations, ont toujours montré la présence de l'association fuso-spirillaire. De plus, des fragments de lèvres ont été prélevés, à l'autopsie de ce Chien, inclus, coupés et examinés. Dans les coupes histologiques de la stomatite expérimentale du Chien on distingue deux zones bien distinctes : l'une superficielle, de mortification des tissus, l'autre profonde, simplement inflammatoire. Ces deux zones se décomposent elles-mêmes en plusieurs couches de constitution différente :

I. *Zone de nécrose.* — Elle comprend : a) une couche superficielle polymicrobienne ; b) une couche de nécrose proprement dite, d'épaisseur très variable suivant l'intensité du processus gangréneux. On y trouve l'association fuso-spirillaire ; e) une couche profonde de prolifération bacillaire où les

bâtonnets constituent un feutrage extrêmement dense.

II. *Zone de réaction inflammatoire.* — Les Bacilles fusiformes ne la pénètrent pas, mais on trouve dans presque toute son étendue des Spirochètes. Cette zone se décompose en : *a*) une couche superficielle de dégénérescence pyknotique ; *b*) une couche profonde d'infiltration polynucléaire.

De l'ensemble de ses recherches Le Blaye concluait que la stomatite mercurielle n'est pas due aux microbes pyogènes vulgaires de la bouche et qu'elle est en réalité une « spirochètose ». Lagarde arrive aux mêmes conclusions : « L'analogie bactériologique, clinique et thérapeutique de la stomatite mercurielle d'une part et des stomatites primitives ulcéreuses et gangréneuses d'autre part, permet de les considérer comme deux formes étiologiques d'une même maladie, spécifique par conséquent, et non polymicrobienne. »

Cette opinion un peu absolue de la nature fusospirillaire de la stomatite mercurielle et de son identité avec la stomatite ulcéreuse n'est pas admise dans son intégralité par tous les auteurs (Vincent, Letulle, Grenet, Roques) ; elle réunit cependant des voix très nombreuses et très autorisées (Achard, Cruet, Milian).

Les cultures de Spirochètes qu'on a pu obtenir ne paraissent pas douées d'un pouvoir pathogène important. C'est le cas pour les expériences de Repaci : l'inoculation des cultures des Spirochètes A

et C ne donne aucune lésion, les variétés B et D donnent des abcès mais qui guérissent rapidement et sans phénomènes généraux. De même Noguchi en inoculant des cultures de *Tr. microdentium* dans le tissu sous-cutané de *M. rhesus* ou dans les testicules du Lapin n'a pu obtenir qu'une induration passagère. Il est vrai que des expériences auraient pu être tentées chez le Chien qui d'après les faits précédents paraît plus réceptif. Il faut tenir compte aussi du fait que nombre d'affections sont particulières à certaines espèces animales (grippe pour l'Homme, peste bovine pour les Bovidés) et que les résultats négatifs des expériences sur les animaux de laboratoire n'ont pas toujours une valeur absolue.

Enfin des résultats thérapeutiques sont à signaler : les très heureux résultats obtenus en traitant par l'arséno-benzol certaines stomatites ou certaines pyorrhées — et, coïncidant avec cette guérison, la diminution ou la disparition des Spirochètes qui pullulaient dans ces lésions. Il est possible que les Spirochètes de la bouche jouent un rôle dans la pathogénie de certaines infections buccales par association avec des microbes. Dans le service des cancéreux à l'Hôpital Pasteur le Dr Dujarric de la Rivière a plusieurs fois noté les faits suivants : chez des cancéreux atteints de cancer de la langue (Réaction de Wassermann négative) secondairement infecté, l'examen des ulcérations buccales et gingivales montrait presque exclusivement des Spirochètes existant en très grand nombre. Un traitement

local et général par l'arséno-benzol amenait une amélioration telle des ulcérations buccales (avec disparition des Spirochètes) qu'il devenait possible d'installer un appareil à radium et de l'y maintenir.

CONCLUSIONS

L'étude des Spirochètes de la bouche présente un intérêt scientifique et pratique : ces parasites constituent un matériel d'étude relativement facile et les progrès réalisés à leur occasion pourront avoir une portée générale ; il est important aussi de bien préciser leur morphologie et leurs caractères pour les distinguer de *Treponema pallidum* dans certaines affections de la bouche. Nous nous sommes donc attachés tout d'abord à indiquer l'aspect morphologique des Spirochètes de la bouche, leur place dans la nomenclature, leurs propriétés tinctoriales, l'aspect qu'ils présentent à l'ultra-microscope, leurs rapports entre eux et avec les Bactéries de la bouche.

La culture des Spirochètes de la bouche pouvait, en permettant l'inoculation aux animaux, aider à résoudre le problème si discuté du rôle pathogène de ces microorganismes ; on pouvait espérer aussi qu'une bonne technique pour les Spirochètes de la bouche pourrait s'appliquer à des organismes plus

déliçats tels que le Tréponème de la syphilis. Aussi de nombreuses tentatives ont-elles été faites. Nous n'avons retenu que les principales mais nous avons donné leur description en détail. C'est ainsi que nous avons étudié les procédés de culture indiqués par Mühlens et Hartmann, par Veillon et Repaci, par Noguchi, par Shimamine. Ces procédés de culture ont permis de préciser des points intéressants. Car s'il est fort difficile de cultiver le Tréponème de la syphilis, il n'est pas indifférent de savoir que des germes qui pourraient, à l'examen direct, prêter à confusion avec lui peuvent être cultivés et présenter des caractères cultureux assez précis pour permettre l'identification. Il est à retenir aussi que les Spirochètes de la bouche ne jouent aucun rôle dans la réaction de Wassermann : des extraits testiculaires très riches en ces Spirochètes ne fournissent pas un antigène plus actif que des organes normaux. Les cultures pures de ces Spirochètes ne donnent pas de déviation du complément avec du sérum syphilitique mais en donnent avec le sérum de Lapin préparé avec des extraits des mêmes Spirochètes.

La question du rôle pathogène des Spirochètes de la bouche est fort complexe et le problème est loin d'être résolu. Il est à noter au point de vue clinique l'extrême abondance des différentes variétés de Spirochètes dans les affections buccales, l'effet très heureux du traitement local ou général par l'arsenobenzol et la disparition presque complète des Spirochètes coïncidant avec la guérison des lésions.

L'expérimentation sur le Chien, en particulier, a donné des résultats intéressants en ce qui concerne la stomatite mercurielle.

Les efforts des chercheurs devront tendre à perfectionner les méthodes actuelles de culture, à en trouver de nouvelles, à préciser les caractères culturaux sur différents milieux et à faire la preuve expérimentale de telle ou telle variété de Spirochète. Ainsi le diagnostic d'espèce aura des bases plus précises que l'examen direct qui n'a jamais en Bactériologie qu'une valeur d'orientation ; le rôle de tel ou tel Spirochète dans les infections de la bouche pourra être précisé et il est probable que bien des divisions viendront scinder les espèces actuelles.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABEL. — Zur Bakteriologie der Stomatitis und angina ulce rosa. *Centralbl. f. Baktériologie*, 15 juillet 1898.
2. ACHARD. — Les applications locales d'arsenobenzol dans le traitement des spirochétoses. *Monde médical*, janv. 1914.
3. ALMKVIST. — Pathogenese der merkuriellen Stomatitis und colitis. *Hygiea et Dermat. Zeitsch.*, 1906 et 1907.
4. ANGELICI. — I bacilli fusiformi di Vincent-Miller nell'uomo e negli animali. *Policlinico*, 1904.
5. BABÈS. — Spindelförmige Bacillen. in Kolle et Wassermann, *Handb. Mikroorg.*, 1907.
6. BAUMGARTNER. — Mikroorganismen der Mundhöhle. *Oesterr. Ung. Vierteljahrsschr. f. Zahnheilk.*, 1900.
7. BEER. — Ueber den Vert der Dünkelfeldbeleuchtung für die klinische Diagnose der Syphilis. *Münch. Mediz. Woch.*, 1907, n° 39.
8. BEITZKE. — Ueber die fusiformen Bacillen. *Centralbl. für Bakt. Ref. Bd.* 35, 1904.
9. BERGERON. — Article « Stomatites », in *Dictionnaire encyclopédique des Sciences médicales*.
10. BERNHEIM. — Ueber einen bakteriologische Befund bei stomatitis ulcerosa. *Centralbl. f. Bakt.*, n° 5 et 6, 1898.
11. BERNHEIM et POSPISHILL. — Zur Klinik und Bakteriologie der Stomatitis ulcerosa. *Jahrb. für Kinderheilk.*, XLVI, 1898.
12. BERTARELLI, VOLPINO et BOVERO. — *R. Acad. di medicina di Torino*, 1905.
13. BEZANÇON (F.). — *Précis de Bactériologie*, Masson, édit.
14. BLANCHARD (R.). — Spirilles, Spirochètes et autres organismes à corps spiralé. *Arch. de Parasitologie*, 1906, X, n° 2 et *Semaine médicale*, 1906, n° 1.
15. BORREL. — Spirilles, Spirochètes, trypanosomes. *Bull. Soc. Biologie*, 1906 et *B. Path. exotique*, 1908.
16. BORREL et CERNOVODEANO. — *C. R. Soc. Biologie*, 1907.
17. BRAÏLOWSKY-LOUNKEWITCH (Mme). — Contribution à l'étude de la flore microbienne de la bouche normale. *Ann. Institut Pasteur*, 1915, p. 379.
18. BRISSY. — Recherches expérimentales sur les injections intra-musculaires d'huile grise. *Thèse de Paris*, 1908.
19. BRUMPT. — *Précis de Parasitologie*, 2^e éd., Masson, éd.
20. BÜHLMANN. — *Müller's Archiv. f. Anatomie*, 1840.

21. CAMPO (G.). — Microorganism of the mouth of the new-born. *Centr. f. Bakt. Ref.*, 1907, p. 496.
22. CHAVANNE (F.). — Le traitement actuel des spirochétoses bucco-pharyngées. *Arch. oto.-rh.-laryngologie*, 1914.
23. CHOMPRET. — Traitement des suppurations buccales par les applications locales de 606. *Revue de Stomatologie*, nov. 1912.
24. COLLET et HORAND. — De la présence de pseudo-tréponèmes pâles dans une angine de Vincent. *Gaz. hebd. des Sciences méd.*, 7 juillet 1907.
25. COMANDON. — La symbiose fuso-spirillaire. *Arch. de Parasitologie*, 1909.
26. — Diagnostic du tréponème pâle à l'ultra-microscope. *Ann. malad. vénériennes*, fév. 1909 et *Thèse de Paris*, 1909.
27. COSTA (S.). — Sur un bacille fusiforme aérobie saprophyte de la cavité buccale. *C. R. Soc. de Biologie*, t. LXX, 1911, p. 814.
28. COTTON ET MOUTON. — *Les ultra-microscopes et les objets ultra-microscopiques*. Paris, Masson, 1906.
29. CRUET. — Stomatite ulcéro-membraneuse et stomatite mercurielle. *Revue Stomatologie*, juillet 1898.
30. DAVID. — *Les microbes de la bouche*. Paris, Alcan, 1890.
31. DIDAY. — Cas de contagion de la stomatite mercurielle. *Ann. de Dermatologie*, 1891, p. 159.
32. DIETRICH. — Bedeutung der Mikroorganismen der Mundhöhle in menschlichen Organismen. *Prag. med. Woch.*, 1890, p. 475.
33. — Bakteriologie des Mundes. *Scheffs Handbuch der Zahnheilk.*, 1861. Bd. I, p. 345.
34. DOBELL. — Researches on the Spirochaets and related organisms. *Arch. f. Protistenk.*, t. XXVI, 1912, p. 117-240.
35. DÖRFLEIN. — *Lehrbuch der Protozoenkunde*. Jéna, Fischer, 1909.
36. DUNEGLOSSOW. — Zur Kenntniss der Mundhöhlentflora bei kranken. *Baumgarten's Jahresber.* Bd. 13, 1897.
37. EICHMAYER. — Ueber angina ulcerosa und stomatitis ulcerosa. *lahrb. f. Kinderheilk.*, 1905.
38. ELLERMANN. — Ueber die Kultur der fusiformen Bacillen. *Centr. f. Bakt. Orig.* Bd. 37, 1904.
39. — Zur Kenntniss der Spindelbazillen, *Zeitschr. für Hyg.*, t. LVI, f. 3, p. 453.
40. FARÉ. — Contribution à l'étude de la stomatite ulcéro-membraneuse. *Thèse de Lille*, 1898.
41. FOURNIER. — Leçons sur la stomatite mercurielle. *Union médicale*, 15 janv. 1891, n° 7, p. 69 et 3 fév. 1891.
42. — Etiologie de la stomatite mercurielle. *Union médicale*, 27 nov., 4 et 21 déc. 1890.
43. GALIPPE. — Des gingivo-stomatites septiques. *Journ. des connaissances médicales*, 1890.

44. GONDER. — Spirochaëten aus dem Darmtraktus. *Centralbl. f. Bakt. Orig.* Bd. 47.
45. GRENET (M.-H.). — Article stomatites in *Pratique médico-chirurgicale*.
46. — Article stomatite ulcéreuse in *Pratique des maladies des enfants*.
47. — Stomatite ulcéreuse. *Gazette des hôpitaux*, 30 mars 1909.
48. — Sur la nature de la stomatite ulcéreuse. *Soc. de Biologie*, 2 juillet 1904.
49. KOLLE. — Presence de Spirochètes dans la pyorrhée alvéolaire. Traitement par le salvarsan. *Medizin Klinik*, 1917, pp. 59-60.
50. KUSTER. — Die flora der normalen Mundhöhle. In *Kolle et Wassermann Bakt.*, 2^e édit.
51. HARTMANN et MUHLENS. — Untersuchungen über Entwicklung der Zahnspirochæten. *Zeitschr. f. Hygiene*, Bd. 55, 1906.
52. — *Deutsche med. Wochens.*, 1907, n° 30.
53. HOFFMANN et PROWAZEK. — Untersuchungen über die Mundspirochæten. *Centralbl. f. Bakt.*, Orig. XLI, p. 741.
53. HÖLLING. — Vergleichende Untersuchungen über Spirochæten und Spirillen. *Arch. Protistenk.*, Bd. 21.
54. HUGENSCHMIDT. — Etude expérimentale des processus de défense de la cavité buccale. *Thèse de Paris*, 1896.
55. JICINUS. — *Walter's Ammones Journ. für chir.*, 1847.
56. LAGARDE. — La stomatite mercurielle maladie fuso-spirillaire (étude bactériologique et critique. *Thèse de Paris*, 1909).
57. LEBEDINSKY. — Gingivo-stomatite et polymicrobisme buccal. *Thèse de Paris*, 1898.
58. LE BLAYE. — Recherches expérimentales sur la stomatite mercurielle. *Thèse de Paris*, 1911.
59. — Stomatite mercurielle traitée par l'arsénobenzol. *Progrès méd.*, 22 juillet 1911.
60. LEEUWENHOCK. — Opera omnia sive arcana naturæ ope microscopiorum exactissimorum detecta, 1722.
61. LEMAIRE. — L'unité des stomatites. Etude physiologique. *Thèse de Paris*, 1904.
62. LESNEUR. — Lecherches sur la stomatite ulcéro-membraneuse. *Thèse de Paris*, 1900.
63. LETULLE. — Angine de Vincent. *Presse médicale*, 29 déc. 1900.
64. — La stomatite mercurielle. *Bull. Soc. Anatom. de Paris*, 1907, p. 85.
65. — La stomatite mercurielle. *Presse médicale*, 1907, p. 175.
66. LEVADITI et ROCHÉ. — La syphilis, 1909.
67. LÉVY (FERNAND). — Séméiologie des stomatites. *Gaz. des Hôpitaux*, 4 juin 1904, n° 63, p. 629.
68. LEWKOWITZ. — Ueber die Reinkultur des fusiformes Bacillus. *Centralbl. f. Bakt.*, 1906, XLI.

69. LOBLOWITZ. — Ueber stomatitis ulcerosa. *Wiener Mediz. Woch.*, 1902, n° 48, 49, 50, 51, 52.
70. LÖEWENTHAL (W.). — Zur Kenntniss der Mundspirochæten. *Med. Klin.*, 1906, n° 11, et *Berlin. Klinich. Woch.*, 1906, n° 10.
71. MACÉ. — Bactériologie, 2^e édit.
72. MAROTTE et NICLOT. — L'angine de Vincent et les diverses déterminations de la symbiose du bacille fusiforme et du spirille. *Médecine moderne*, 5 juin 1911.
73. MAUREL (Gérard). — Traitement des stomatites ulcéreuses et de l'angine de Vincent. *Journ. des praticiens*, 13 mars 1917, p. 137.
74. — Le traitement des localisations bucco-pharyngées de l'infection fuso-spirillaire par l'arsénobenzol. Thèse de Paris, 1919.
75. — La stomatite mercurielle. *Gaz. des hôpitaux*, sept. 1920.
76. MENDEL. — Recherches sur les amibes dans la pyorrhée alvéolaire et les autres stomatopathies. *Ann. Inst. Pasteur*, 1916 et *Soc. de Biologie*, juillet 1920.
77. MILIAN. — Les stomatites mercurielles frustes. *Progrès méd.*, 3 juillet et 6 oct. 1909.
78. — Traitement de la stomatite mercurielle par le 606. *Revue de Stomatologie*, nov. 1912.
79. MILLER. — *Die microorganismen der Mundhöhle*. Leipzig, 1892.
80. MONIER. — Contribution à l'étude pathogénique des infections dentaires. Thèse de Paris, 1904.
81. MOUTOT. — *Lyon médical*, 1906, p. 687.
82. MÖLLER (Magnus). — Stomatitis gangræna. *Dermat. Zeitschr.*, 1911, n° 2, 3 et 4.
83. MÜHLENS (P.). — Zur Züchtung von Zahnspirochæten. *Deutsche Med. Woch.*, 1906, p. 797.
84. — Zahnspirochæten. *Arch. de Physiologie et Path. générale*, 1899.
85. — Vergleichende Spirochætenstudien. *Zeitsch. f. Hygien. und Infektionskrank.* Bd. 57.
86. MÜHLENS et HARTMANN. — Voir HARTMANN.
87. NEISSER, BAERMANN et HALBERSTADTER. — *La syphilis*, I, IV, 1906.
88. NETTER. — Microbes pathogènes contenus dans la bouche des sujets sains ; maladies qu'ils provoquent ; indications pour l'hygiéniste et le médecin. *Revue d'Hygiène*, 1889.
89. — Emploi du salvarsan dans le traitement des angines ulcéreuses et du noma. *Bull. Soc. méd. hôp. Paris*, 12 juillet 1912.
90. NICLOT et MAROTTE. — Voir MAROTTE.
91. NOGUCHI. — A method for cultivating *Treponema pallidum* in fluid media. *Journ. exp. Med.*, t. XVI, 1912, pp. 211-215.

92. — Kulturelle und immunisatorische Differenzierung zwischen *Spirochaeta pallida*, *Sp. refringens*, *Sp. microdentium* und *Sp. macrodentium*. *Zeitsch. f. Imm.*, 1, Orig., t. XIV, pp. 412-419.
93. — Cultural Study on mouth Spirochaetae. *Journ. exp. méd.*, t. XV, f. 1, pp. 81-88.
94. — Cultivation of *Treponema calligyrum* (new species). *Journ. exp. méd.*, t. XVII, f. 1, p. 89-99.
95. — *Treponema mucosum* (new species) a mucin-producing Spirochaeta from pyorrhea alveolaris, grown in pure culture. *Journ. exp. méd.*, t. XVI, f. 2, pp. 199-210.
96. PASINI. — Nachweis der Spirochaeta pallida in den Zahnkeimen bei hereditärer Syphilis. *Oesterr. Zeitsch. f. Stomatologie*, 1908.
97. PERTHES. — Ueber Noma. *Arch. f. Klin. Chir.*, t. LIX.
98. PLAUT. — Ueber die Geisseln bei fusiform Bacillen. *Centralb. f. Bakt.*, 1907, t. XLIV.
99. — Studien zur bakteriellen Diagnostik der Diphtherie und der angina. *Deutsch. Med. Woch.*, 1894, p. 920.
100. PODBIELSKY. — Die Mikroben der Mundhöhle der Erwachsenen und Kinder in gesunden Zustände. *Baumgart. Jahrb.*, 1891.
101. PROCA, DANILA et STRCE. — Milieux pour la culture des Spirochètes. Réunion biologique de Bucarest. *C. R. Soc. de Biologie*, t. LXXVIII, p. 895, 16 mai 1912.
102. PROST. — Etude et traitement de la stomatite mercurielle. *Thèse de Paris*, 1902.
103. PROWAZECK. — Vergleichende Spirochaetenuntersuchungen. *Arb. a. d. Kaiserl. gesundheits.*, 1907, XXVI, f. 1, p. 23.
104. RAMOND. — A propos du traitement de l'angine et des stomatites ulcéro-membraneuses. *Prog. méd.*, 20 déc. 1916, p. 241.
105. RAVAUT. — *Soc. franc. de Dermat.*, 1^{er} juin 1911.
106. REPACI. — Contribution à la connaissance des microbes spirales de la bouche. *Annales Inst. Pasteur*, 1912, p. 536.
107. — Isolement et culture d'un spirochète de la bouche. *C. R. Soc. de Biologie*, 1911, pp. 984-786.
108. — Contribution à l'étude de la flore microbienne anaérobie de la bouche de l'homme à l'état normal et pathologique. *C. R. Soc. Biologie*, 1909.
109. ROBIN. — Des végétaux qui croissent sur les animaux vivants. *Hist. nat. des végétaux parasites*, 1853.
110. RONA. — Zur Ätiologie der Plaut Vincentische Angina, des Stomakace, der Stomatitis mercurialis gangrænosa. *Arch. f. Dermatologie*, Bd. LXXVI, p. 171.
111. SALOMON. — Bakteriologische Befunde bei stomatitis und tonsillitis ulcerosa. *Deutsch. Med. Woch.*, 1899, p. 227.
112. SANGIORGI. — Les Spirochètes de la bouche. *Pathologica*, 15 sept. 1916, p. 283.

113. SCHAUDINN. — Zur Kenntniss des Spirochæta pallida und anderer Spirochæten, *Arbeit a. d. Kaiserl. Gesundheits.*, 1907, XXVI.
114. SCHIMAMINE. — Ueber die Reinzüchtung der Spirochæta pallida und Sp. dentium. *Centr. f. Bakt. Orig.*, 1912, pp. 311-335.
115. SCHEREDCHEWSKI. — *Deutsch. Med. Woch.* 1909.
116. SEITZ. — Bacillus hastilis. *Zeitsch. f. Hyg.*, 1899, XXX, p. 47.
117. SNÖCK. — Un cas de contagion de la stomatite mercurielle. *Revue de Stomatologie*, 1910, p. 7.
118. SWELLENGREBEL (N.-H.). — Sur la cytologie comparée des Spirochètes et des Spirilles. *Ann. Inst. Pasteur.* juillet 1907.
119. THERRE. — Les abcès gingivaux. *Monde médical.* Paris, 1914, pp. 492-500.
120. TUNNICLIFF. — Identity of fusiform bacilli and Spirilla. *Journ. inf. Diseases*, n° 1, 1906.
121. — Further Studies on fusiform bacilli and Spirilla. *Journ. of. inf. Diseases*, 1911, p. 136.
122. VEILLON et ZUBER. — Recherches sur quelques microbes strictement anaérobies. *Arch. méd. expér.*, 1898, p. 517.
123. VESZPRÉMI. — Kultur und Tierversuche mit dem Bacillus fusiformis und dem Spirillum. *Centr. f. Bakt.* Bd. 38, 1905.
124. — Züchtung und Tierversuche mit Bacillus fusiformis, Spirochæte gracilis und cladothrix putridogenes. *Centr. f. Bakt.*, 1907, XLIV et XLV.
125. VIGNAL. — Recherches sur les micro-organismes de la bouche. *Arch. de Physiologie*, 1886.
126. VINCENT. — Sur l'étiologie et sur les lésions anatomo-pathologiques de la pourriture d'hôpital. *Ann. Inst. Pasteur*, 1896, p. 492.
127. — Etiologie des stomatites secondaires, particulièrement de la stomatite mercurielle, *C. R. Soc. Biologie*, 1905, p. 774.
128. — Etiologie de la stomatite ulcéro-membraneuse, *C. R. Soc. Biologie*, 1904.
129. — Recherches sur l'Etiologie de la stomatite ulcéreuse primitive, *Arch. internat. de laryngol.*, mars 1904 et *Soc. de Biologie*, janvier 1904.
130. VINCENTINI. — Bacteria of the sputa and cryptogamic flora of the mouth. London, 1897.
131. WEAVER et TUNNICLIFF. — The occurrence of fusiform bacillus and Spirilla. *Journ. inf. Diseases*, 1905.
132. ZETTNOW. — *Zeitsch. f. Hyg.*, 1906, t. IV.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
GÉNÉRALITÉS	9
CHAPITRE PREMIER. — <i>Morphologie</i>	16
I. — Technique	16
II. — Description	20
III. — Rapports des Spirochètes entre eux et mode de groupement.	27
IV. — Rapports avec les Bactéries de la bouche	28
CHAPITRE II. — <i>Culture</i>	29
I. — Technique de Mühlens et Hartmann	30
II. — Technique de Veillon et Repaci	30
III. — Technique de Noguchi	41
IV. — Technique de Shimamine	45
CHAPITRE III. — <i>Rôle pathogène</i>	46
CONCLUSIONS	52
BIBLIOGRAPHIE	55

